

ARTICLES ORIGINAUX

Note sur la possibilité d'emploi du vaccin antitrypanosomique de culture tissulaire pour la protection des zébus vivant en zone d'endémicité trypanosomienne

par A. PROVOST

La vaccination antitrypanosomique des zébus de l'Afrique Centrale, zone infestée de glossines, est délicate.

Les vaccins formolés de divers types avaient résolu le problème de l'innocuité. Souffrant toutefois du double inconvénient d'être coûteux à produire et de ne donner qu'une immunité faible tant en qualité qu'en durée, ils se sont vus supplanter par les virus-vaccins vivants atténués.

Le vaccin capripesque a été et est encore largement utilisé au Tchad et au Cameroun. Les rapports officiels font état d'une mortalité post-vaccinale oscillant autour de 2 p. 100 des primo-vaccinés. Ce chiffre optimiste semble ne pas refléter l'entière vérité, soit parce que les contrôles de vaccinations sont effectués trop peu de temps après l'inoculation (alors que les mortalités post-vaccinales s'étagent jusqu'au 45^e jour), soit que l'interrogatoire est adressé au chef de village qui ignore le détail de ce qui se passe dans les troupeaux de ses administrés. En ces circonstances, l'interrogatoire individuel de l'éleveur a beaucoup plus de valeur. Les chiffres colligés depuis trois ans permettent d'affirmer qu'il faut compter avec une mortalité post-vaccinale de 20 p. 100 des primo-vaccinés (âgés de moins de 18 mois), chiffre également atteint par PLOWRIGHT en Nigéria du Nord (2). Mais lorsque l'intervention vaccinale est effectuée sur un troupeau trypanosomé latent, c'est sur un chiffre beaucoup plus important qu'il faut tabler. Ce fait s'avère particulièrement exact lorsqu'il

s'agit de troupeaux sédentaires, soumis à la répétition du contagement trypanosomien et sous-alimentés, parce que vivant sur des pâturages surchargés et hébergeant de surcroît helminthes et protozoaires intestinaux. On peut s'attendre sur certains troupeaux (tels ceux du Mayo-Kebbi et du Moyen-Chari au Tchad) à 80 p. 100 de mortalité chez les primo-vaccinés. Il est d'ailleurs remarquable que les éleveurs de ces régions ne s'opposent pas à la vaccination : c'est pour eux une occasion de manger de la viande !

Le vaccin lapinisé, beaucoup plus atténué, pourrait être la solution de ce problème de vaccination s'il ne présentait le double désavantage de réclamer des lapins pour sa production (élevage très difficile au Tchad) et d'être de conservation fragile.

Le vaccin avianisé souche B. A sur lequel nous avons fondé des espoirs ne donne qu'une immunité dérisoire (1) allant à l'encontre du but recherché.

Aucune solution vraiment satisfaisante n'avait jusque là été trouvée, et c'est l'une des raisons pour lesquelles le Laboratoire de Farcha continuait à produire quelques dizaines de milliers de doses annuelles de vaccin formolé saponiné.

PLOWRIGHT et FERRIS ont adapté le virus bivopésique aux cultures cellulaires de rein de veau. Vers le 60^e passage, la souche s'est trouvée suffisamment atténuée pour pouvoir être utilisée comme virus vaccin (3, 4). Disposant de la souche grâce à l'amabilité de MM. THORNE et JONH-SON, du Federal Veterinary Research Laboratory, Vom, Nigeria, nous avons voulu voir quel était le comportement du bétail tout venant trypanosomé inoculé avec ce virus - vaccin.

Reçu pour publication : octobre 1961.
Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop., 1961, 14, n° 4.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Souches de virus : La souche vaccinale est la souche Kabete 0 adaptée à la culture cellulaire de rein de veau par PLOWRIGHT et FERRIS (3). Reçue de VOM à son 69^e passage, nous l'avons désignée par : RP KO/69 BK (*Rinderpest Kabete 0, 69th passage in Bovine Kidney*).

La souche d'épreuve est l'une de nos souches sauvages adaptée à la culture cellulaire (5) ; utilisée à son 5^e passage en culture cellulaire de rein d'embryon de veau, elle est toujours virulente et provoque une montée thermique et l'apparition de lésions classiques de peste bovine en 4 à 5 jours. Nous la désignons par PB β "/5 REV (Peste Bovine souche β ", 5^e passage en rein d'embryon de veau).

Cultures cellulaires : Elles sont obtenues à partir de reins d'embryons de veau selon le procédé que nous avons déjà évoqué (5). Après prélèvement, hachage et trypsinisation à froid pendant 18 heures dans le liquide de Hanks, puis centrifugation, le culot cellulaire est remis en suspension dans le milieu trishydrolysate de caséine décrit par DAGUET, ROGER et ROGER (6) à raison de 500.000 cellules environ par ml. La suspension cellulaire est directement infectée par le virus choisi avant sa répartition soit en boîte de Roux (100 ml de suspension cellulaire) soit en boîtes de Pétri (20 ml de suspension cellulaire) contenant des lamelles rondes destinées à suivre la progression des effets cytopathogènes (5).

Le liquide virulent servant à réaliser l'infection de la suspension cellulaire est le liquide brut provenant de la récolte du passage précédent ; on emploie en général un volume égal au 1/10 de la suspension cellulaire fraîche.

Les boîtes sont mises à incuber à 37°. Un seul changement du milieu est effectué 48 heures après l'ensemencement. La récolte intervient 5 jours après le changement de milieu.

Le titrage en unités virulentes viables est effectué dans le même système cellulaire. Les dilutions logarithmiques à base 10 sont réalisées et 10 ml de chaque dilution sont portées dans 5 boîtes de Petri contenant des lamelles, à raison de 2 ml par boîte contenant 18 ml de suspension cellulaire. Les boîtes sont conservées pendant 10 jours à 37°, avec renouvellement du milieu le 2^e et le 6^e jour.

Le titre est calculé selon la méthode de REED et MUENCH à partir des boîtes où les lamelles colorées présentent des lésions spécifiques et non équivoques de l'infection de la couche monocellulaire par le virus pestique. Il est exprimé en dose cytopathogène 50 p, 100 (DC 50).

Bovins d'expérience : Treize zébus Bororo, âgés de 18 mois à 2 ans ont été utilisés. Ils étaient originaires de la République Centrafricaine, territoire où la peste n'a pas sévi depuis 1947 et où aucune vaccination pestique n'est pratiquée. Ils ont été transportés de Bangui à Fort-Lamy en camion. On était en droit de supposer leur entière sensibilité à l'infection bovipestique.

Ces bovins ont séjourné plusieurs semaines à Bossembélé et aux alentours de Bangui dans des galeries forestières à infestation glossinienne particulièrement dense. Dix d'entre eux (n° 601, 602, 603 ; 604, 605, 608, 610, 612, 617) présentaient une infection à *Trypanosoma vivax* décelable à l'examen en goutte épaisse et sur frottis*. Ceci ne veut pas dire que les trois autres bouvillons n'hébergeaient pas de trypanosomes bien que l'on n'en trouvât point à l'examen.

Huit bouvillons (n° 601 à 608) ont reçu par voie sous-cutanée 1 ml de la récolte RPKO/71 BK titrant 10⁶ DL₅₀ par ml. Trois autres bouvillons (n° 610, 611, 612) ont été laissés en contact avec les vaccinés pour apprécier une éventuelle excrétion du virus-vaccin par les vaccinés.

L'épreuve virulente a été réalisée 25 jours après la vaccination par inoculation sous-cutanée de 1 ml de la souche PB β "/5 REV titrant 10⁷ DL₅₀ par ml.

Un bouvillon (n° 616) a servi de témoin, l'autre témoin étant mort entre temps.

L'observation des bouvillons a consisté en une prise journalière de température suivie d'un examen clinique soigneux et un contrôle bi-hebdomadaire de l'infection trypanosomienne.

RÉSULTATS

Parmi les 8 bovins vaccinés, un seul (n° 606) présenta, du 5^e au 8^e jour suivant la vaccination, une hyperthermie à 40°5 ; puis il revint à la

* Nous remercions notre confrère J. BALIS qui a pris le soin de cette détermination.

TABLEAU I - Résultats de la vaccination de bovins, vivant en zone d'endémicité trypanosomienne, avec l'ovo-vaccin antibovipestique.

Utilisation		Numéro des bovins	Présence de <u>Trypanosoma vivax</u>	Période d'observation	Résultat de l'épreuve virulente	Observations
Animaux vaccinés avec RPKO/71 BK		601	+	Normal	Immun	Nombreux trypanosomes
		602	+	Mort de trypanosomiase 27 jours après vaccination		
		603	+	Normal	Immun	
		604	+	"	"	
		605	+	"	"	
		606	-	"	"	
		607	-	"	"	
		608	+	"	"	
Témoins	Contagiosité du vaccin	610	+	Normal	Mort de peste	
		611	-	"	"	
		612				
	Virulence du vaccin d'épreuve	616	-	Normal	Mort de peste	Nombreux trypanosomes
		617	+	Mort de trypanosomiase 25 jours après le début de l'expérience		

normale. La température des autres ne montra que des fluctuations insignifiantes. Le zébu 606 étant l'un de ceux qui n'hébergeaient pas de trypanosome, on peut regarder sa montée thermique comme caractéristique de l'infection vaccinale.

Aucun des troubles organiques qui suivent ordinairement la vaccination capripéstitique ne se fit jour (larmoiement, diarrhée, éventuellement micro-ulcères gingivaux).

Deux zébus, l'un vacciné (n° 602) l'autre témoin (n° 617), sont morts de trypanosomiase, respectivement les 27^e et 25^e jours après le début de l'expérience. Il est douteux, au regard du comportement des autres vaccinés, que ce soit ou la vaccination ou l'épreuve bovipestique virulente qui ait exacerbée la trypanosomiase du 602. On doit plus justement penser que ces deux bovins sont morts d'une trypanosomiase pure, indice de la virulence de la souche.

Après l'épreuve virulente, aucun des vaccinés ne présenta le moindre symptôme de peste ni aucune élévation thermique. Par contre, les trois témoins placés en contact avec les vaccinés depuis le début de l'expérience (n° 610, 611, 612), ainsi

que le témoin restant séparé d'eux (n° 616) contractèrent une peste, classique dans ses symptômes et son évolution.

Le tableau I résume les résultats.

La conclusion à tirer de cette expérience est triple :

- le vaccin de culture de tissu est d'une parfaite innocuité pour le bétail zébu, en particulier pour le bétail trypanosomé.
- il vaccine parfaitement contre la peste.
- il n'y a pas contagion de bovins vaccinés avec ce vaccin à des bovins réceptifs placés à leur contact.

DISCUSSION

Ainsi que nous le soulignons au début de cette note, la vaccination des bovins trypanosomés latents a toujours été délicate. GUYAUX (7), BLANC (8), entre autres auteurs et pour ne citer que quelques opinions valant pour l'Afrique Centrale, ont justement insisté sur le péril auquel exposait le virus-vaccin capripéstitique employé sur de tels animaux.

Les résultats de cette première expérience semblent pleinement rassurants. Ils doivent toutefois être étendus à des expériences pilotes sur le terrain, car il y a souvent un grand pas entre l'application pratique et les expériences de laboratoire.

Des problèmes techniques se posent pour la production du virus-vaccin de culture tissulaire, notamment la lyophilisation correcte du virus. Ils doivent être résolus à brève échéance.

Au regard de l'immunité engendrée, celle-ci semble être de bonne qualité. Mais les expériences rapportées ont été faites sur des animaux qui n'avaient jamais été vaccinés contre la peste et qui n'avaient par conséquent aucun anticorps antipestique. Il faut se demander si, sur le bétail « tout venant » du Tchad et du Cameroun qui possède des anticorps de ce type, d'origine maternelle ou vaccinale, ce vaccin ne se montrera pas

trop atténué, ainsi que cela s'est manifesté pour le vaccin avianisé BA (1).

La durée de l'immunité est aussi une inconnue, bien que des premières informations émanant du Kenya permettent de tabler sur une durée minima de 3 ans (9).

Quoiqu'il en soit des réserves que nous venons de faire, il semble que le vaccin de culture cellulaire pourrait dès maintenant trouver son utilisation dans les régions à forte infestation trypanosomienne que menacerait une épizootie de peste bovine. Ce pourrait être le cas de la R. C. A. et du Congo, où un foyer pestique est bruyamment apparu en janvier 1961.

*Institut d'élevage et de médecine
vétérinaire des pays tropicaux :
Laboratoire de recherches vétérinaires
de Farcha, Fort-Lamy (Tchad).*

RÉSUMÉ

Une expérience pilote de laboratoire a montré que le virus-vaccin bovipestique atténué par passage en cultures cellulaires de rein de veau se montrait d'une parfaite innocuité pour le bétail zébu parasité par *Trypanosoma vivax*. La maladie subclinique engendrée par la vaccination n'est pas contagieuse ainsi que le montrent des témoins gardés au contact des vaccinés et qui conservent leur entière sensibilité. Les vaccinés sont immuns à l'inoculation de virus bovipestique virulent. Ce type de vaccin ouvre les grands espoirs pour la vaccination des zébus vivant dans des régions infectées de trypanosomes.

SUMMARY

A note on the use of tissue-culture rinderpest vaccine for the protection of Zebu type cattle living under enzootic conditions of Trypanosomiasis

A laboratory pilot experiment has shown that Zebu cattle infected with *T. vivax* could be inoculated with innocuity with rinderpest-virus attenuated by tissue culture. The sub-clinical infection which follows is non-contagious. Susceptible controls in contact remained susceptible as shown by challenge, while the vaccinates resisted challenge with virulent virus. This type of vaccine opens up considerable possibilities in trypanosomiasis enzootic areas.

RESUMEN

Nota sobre la posibilidad de emplear una vacuna antibovipestica en cultivo tisular para la proteccion de zebús que habitan zonas enzooticamente afectas de tripanosomiasis

Una experiencia piloto de laboratorio ha demostrado que el virus vacuna boviséptico atenuado por pases en cultivo tisular sobre celulas renales de ternera ofrece una perfecta inocuidad para el ganado zebú parasitado por *Trypanosoma vivax*.

La enfermedad subclinica engendrada por la vacunacion no es contagiosa como lo demuestran testigos que conservan enteramente su susceptibilidad viviendo en contacto con los vacunados. Los vacunados son inmunes a la inoculacion de virus boviséptico virulento. Este tipo de vacuna abre las mas grandes esperanzas para la vacunacion de zebús que viven en zonas infectas de tripanosomas.

BIBLIOGRAPHIE

1. PROVOST (A.), VILLEMOT (J. M.) et QUEVAL (R.). — Utilisation du vaccin avianisé antipestique souche BA en Afrique Centrale. *Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1961, **14** :
2. PLOWRIGHT (W.). — Recent observations on rinderpest immunization and vaccines in northern Nigeria. *Brit. vet. J.*, 1957, **43** : 385.
3. PLOWRIGHT (W.) et FERRIS (R. D.). — Studies with rinderpest virus in tissue culture I. Growth and cytopathogenicity. *J. comp. Path.*, 1959, **69** : 152.
4. PLOWRIGHT (W.) et FERRIS (R. D.). — Studies with rinderpest virus in tissue culture II. Pathogenicity for cattle of culture-passaged virus. *J. comp. Path.*, 1959, **69** : 173.
5. PROVOST (A.) et VILLEMOT (J. M.). — Note sur les plasmodes multinucléés rencontrés dans les cultures cellulaires infectées de virus bovipestiques. *Ann. Inst. Pasteur* 1961, **100**.
6. DAGUET (G. L.), ROGER (F.) et ROGER (A.). — La technique de séro-diagnostic rapide des poliomyélitiques dans les selles. *Ann. Inst. Pasteur*, 1961, **100** : 656.
7. GUYAUX (R.). — Trypanosomiase latente et vaccination antipestique au moyen du goat-virus. *Bull. agri. Congo Belge*, 1951, **42** : 130.
8. BLANC (R.). — La lutte contre la peste bovine au Cameroun. *Bull. Acad. vét. France*, 1947, **20** : 287.
9. SCOTT (G. R.). — Information personnelle.